

# 古庵心腎丸이 methotrexate로 유발된 SD Rat의 면역기능저하에 미치는 영향

강대성 · 박송기\* · 권은희 · 이연경 · 신현철 · 강석봉

대구한의대학교 한의과대학 내과학교실

## Immunostimulating Effect of Goamshimshinhwan on Methotrexate-induced Immunosuppressed SD Rats

Dae Sung Kang, Song Kee Park\*, Eun Hee Kwon, Yeon Kyeong Lee, Hyeon Cheol Shin, Seok Bong Kang

*Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Daegu Hanny University*

In order to investigate the effect of Goamshimshinhwan(GASSW) on SD rats with deteriorated immunity caused by methotrexate. Methotrexate was fed to the SD rats once a day for 4 days. After the immune responses of the rats are deteriorated, Goamshimshinhwan(GASSW) water extracts were fed to the SD rats once a day for 14 days at a dosage 1,000, 500 and 250mg/kg/10ml. And the changes on body weight and gains, spleen weight, total blood leukocyte numbers, total lymphocyte numbers, the percentage of B-cell, T-cell, CD3+CD4+ T-cell, CD3+CD8+ T-cell and CD4+/CD8+ T-cell ratios in the blood and spleen were observed. In addition, the serum IL-2 levels and productivity of IL-2 of splenic cells were also demonstrated in this study. The changes on body weight were increased significantly in 1000 and 500mg/kg of GASSW groups and the changes on body gain were increased significantly in 1000mg/kg of GASSW groups as compared with control group. The changes on the spleen weight (absolutely or relatively) were increased significantly in all GASSW groups as compared with control group. The total blood leukocyte numbers were increased significantly in 1000 and 500mg/kg of GASSW groups as compared with control group. The total lymphocyte numbers were increased significantly in all GASSW groups in the blood and increased significantly in 1000 and 500mg/kg of GASSW groups in spleen as compared with control group. The percentage of B-cell and T-cell were increased significantly in 1000mg/kg of GASSW groups in the blood and increased significantly in 1000 and 500mg/kg of GASSW groups in spleen as compared with control group. The percentage of CD3+CD4+ T-cell and the serum IL-2 levels and productivity of IL-2 of splenic cells were increased significantly in 1000 and 500mg/kg of GASSW groups in the blood and spleen as compared with control group. The percentage of CD3+CD8+ T-cell were increased significantly in 1000mg/kg of GASSW groups only in spleen as compared with control groups. The CD4+/CD8+ T-cell ratios were increased significantly in 1000 and 500mg/kg of GASSW groups only in the blood as compared with control group. Goamshimshinhwan(GASSW) has immuno-stimulating effect on SD rats with deteriorated immunity caused by methotrexate.

Key words : Goamshimshinhwan, Methotrexate, CD3+CD4+ T-cell, IL-2, Immunity

### 서 론

면역이란 바이러스 · 세균 · 진균 등의 미생물, 거대 분자 등

\* 교신저자 : 박송기, 대구시 수성구 상동 165 대구한의대학교 부속한방병원

· E-mail : sk-park77@hanmail.net, · Tel : 053-770-2082

· 접수 : 2006/09/15 · 수정 : 2006/10/10 · 채택 : 2006/11/15

을 포함하는 외래물질 및 종양세포 등의 체내발생물질에 대한 생체 반응과 그 반응에 의해 초래되는 생리학적, 병리학적 결과 까지 포함하고 있으며<sup>1,2)</sup>, 이러한 여러 면역반응을 매개로 인체 조직을 손상시키는 유기물과 화학물질로부터 방어 작용을 수행 하여 생체 항상성을 유지하고 저항력을 증강시키는 것이 면역계의 기능이다<sup>3)</sup>.

한의학에서는 「黃帝內經」의 「靈樞·百病始生篇」<sup>4)</sup>에서 ‘風雨寒熱 不得虛 邪不能獨傷人’, 「素問·刺法論」<sup>5)</sup>에서 ‘正氣存內 邪不可干’, 「素問·評熱病論」<sup>5)</sup>에서 ‘邪之所湊 其氣必虛’라 하여, 질병 발생의 근본 원인은 邪氣가 인체에 작용된 후 인체 내부의 陰陽, 氣血, 經絡, 臟腑 등의 활동에서 드러나는 陰陽의 세력 균형의 변화에 있다고 설명하며, 이러한 正氣의 질병에 대한 저항능력은 현대의 면역기능과 유사하게 인식할 수 있을 것으로 생각된다<sup>6-8)</sup>.

한편, 현대의 의료기술은 하루가 다르게 발달하고 있지만 인간의 삶의 환경은 갈수록 나빠져 성인은 물론 청소년들까지도 각종 질환과 스트레스에 시달리면서 건강 기능성 식품 및 천연물 의약품에 대한 관심이 높아지고 있으며, 이러한 가운데 면역활성 작용이 있는 것으로 알려진 각종 천연물 약재 및 복합 처방의 효능에 관한 연구가 진행되고 있다.

최근 면역기능에 미치는 영향에 관한 연구들 중에서 單味에 관한 연구로는 人蔘<sup>9)</sup>, 黃芪<sup>9,10)</sup>, 何首烏<sup>11)</sup>, 魚腥草<sup>12)</sup> 등, 복합 처방에 관한 연구로는 桑菊飲<sup>12)</sup>, 十全大補湯<sup>13)</sup>, 固真飲子<sup>14)</sup>, 黃芪建中湯<sup>15)</sup>, 加味歸茸湯<sup>16)</sup> 등이 있었으나 古庵心腎丸에 관한 연구는 아직 이루어지지 않았다.

이에 저자는 「東醫寶鑑」의 「虛勞門」<sup>17)</sup>에 따르면 ‘治勞損心腎 虛而有熱 驚悸怔忡 遺精盜汗 目暗耳鳴 腰痛脚痠 久服黑髮 令人有子’의 효능을 가지고, 「雜病源流犀燭」의 「臟腑門」<sup>18)</sup>에 따르면 ‘治胸中痞塞 不能飲食 如痴如醉 心中常有所歎 爰居暗室 或倚門後 見人則驚避無地’의 효능을 가진 古庵心腎丸이 면역기능에 미치는 영향을 살펴보기 위하여, 면역억제제인 methotrexate (이하 MTX) 투여로 유발된 면역억제 SD rat에 古庵心腎丸 추출물 1,000, 500 및 250mg/kg을 2주간 투여한 후, 체중 및 비장 중량의 변화, 말초혈액 중 총 백혈구수의 변화, 비장 및 말초혈액에서의 총 림프구수, B 세포율, T 세포율, CD3+CD4+ T 세포율, CD3+CD8+ T 세포율, CD4+/CD8+ T 세포율 및 Interleukin(IL)-2 함량 등을 평가하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

성숙한 체중 180g내외의 암컷 Sprague-Dawley(SD) 계 Rat (생후 6주령, Charles River, Japan)를 사료(삼양사, 서울)와 물을 충분히 공급하면서 실험실 환경에 10일간 적응시킨 후, 온도 (20-25℃)와 습도(30-35%)가 조절된 사육실에서 사육하였으며, 환기횟수는 11-12회/hr, 조명은 12hr/day를 유지하였다. 사료는 고형사료를 자유롭게 공급하였으며, 물은 수돗물을 자유롭게 공급하였다. 본 실험에 사용된 약재는 대구한의대부속대구한방병원에서 구입한 것을 정선하여 사용하였으며, 본 실험에 사용한 古庵心腎丸 處方의 내용과 20帖 분량의 조성은 Table 1과 같다.

### 2. 방법

#### 1) 실험군의 구분

정상군을 제외한 모든 MTX(Sigma, USA) 투여군에서는

MTX 투여 5일 후에 혈중 총 백혈구수를 측정하여 정상군에 비해 약 45%이상 감소된 실험동물만 선정하고, 정상군의 경우에는 체중차이가 비교적 적은 개체를 선택하여, 정상군(Sham), 대조군(Control) 및 1,000, 500, 250mg/kg의 약물투여군(GASSW group, T1, T2, T3)의 5개 군으로 구분한 후, 각 군 당 6마리씩 실험에 사용하였다.

Table 1. Composition of “Goamshimshinwan” Used in This Study

Herbs	Scientific Name	Dose (g)
熟地黄	REHMANNIAE RADIX PREPARAT	112.50
生乾地黄	REHMANNIAE RADIX	112.50
山藥	DIOSCOREAE RHIZOMA	112.50
白茯苓	PORIA	112.50
當歸	ANGELICAE GIGANTIS RADIX	56.25
澤瀉	ALISMATIS RHIZOMA	56.25
黃柏(鹽酒炒)	PHELLLODENDRI CORTEX	56.25
山茱萸	CORNII FRUCTUS	37.50
枸杞子	LYCII FRUCTUS	37.50
龜板(酥炙)	TESTUDINIS CARAPAX	37.50
牛膝	ACHYRANTHIS BIDENTATAE RADIX	37.50
黃蓮	COPTIDIS RHIZOMA	37.50
牡丹皮	MOUTAN CORTEX	37.50
鹿茸(酥炙)	ANTLER	37.50
生甘草	GLYCYRRHIZAE RADIX	3.75
Total		885.00g

#### 2) 추출

선정된 약제 100帖 분량(4425.00g)을 취하여 정제수 5,000ml에 넣어 가열 추출한 후 흡인 여과한 여과액을 rotary vacuum evaporator(N-N type; LAB Camp, Dajeon, Korea)로 감압·농축하여 점조성의 추출물을 얻은 다음 programmable freeze dryer(PVTFD10A; Ilshin Lab., Seoul, Korea)를 사용하여 동결 건조시켜 20帖 당 173.28g, 총 866.40g(수율 약 19.58%)의 물 추출물을 얻어 실험에 사용하였다.

#### 3) MTX에 의한 면역억제 유발

정상군을 제외한 모든 실험동물에 각각 MTX 2mg/kg을 생리식염수에 녹여 5ml/kg의 농도로 매일 1회씩 4일간 경구 투여하여 면역억제를 유발하였으며, 정상군에서는 MTX 대신 동일한 양의 멸균증류수만 동일한 방법으로 투여하였다. MTX 투여 5일 후 말초혈액을 채취하여, 총 백혈구수가 정상군에 비해 약 45% 이상 감소된 경우 면역억제가 유발된 것으로 판단하였다.

#### 4) 실험물질의 투여

古庵心腎丸 추출물 투여군에서는 각각 1,000, 500 또는 250mg/kg의 古庵心腎丸 추출물을 멸균증류수에 현탁시켜 10ml/kg의 용량으로 매일 1회씩 14일간 경구투여 하였다. 정상군 및 대조군에서는 동일한 용량의 멸균증류수를 동일한 방법으로 경구투여 하였다. 추출물 또는 멸균증류수는 MTX 투여 6일 후부터 14일간 투여하였다.

#### 5) 체중 및 체중증가량의 측정

실험동물의 체중은 MTX 투여 1일 전, MTX 투여일, MTX 투여 5일 후, 약물 투여 시작일, 약물 투여 후 1, 7, 14일 후 및 최종 희생일에 측정하였으며, 모든 실험동물은 사료 섭취와 관련된 체중 차이를 줄이기 위해, 투여 시작일 및 최종 희생일에 18

시간 이상 절식시켰다. 또한 실험 시작시의 개체별 체중 차이에 기인한 변화와 MTX 투여 후 체중의 변화를 관찰하기 위하여 아래와 같이 투여기간 동안의 체중 변화량과 면역억제 유발기간 동안의 체중증가량을 계산하였다.

Body weight gains during dosing (Day 0 - Day 14) = Body weight at sacrifice - Body weight at initial dosing

Body weight gains during induction periods (MTX 0 - MTX 5) = Body weight at 5 days after MTX-dosing - Body weight at MTX dosing

6) 비장 중량의 측정

모든 실험동물은 최종 부검일에 마취시킨 다음 비장을 적출하여 g단위로 중량을 측정하여 절대 중량치를 계산하였다. 또한 개체간의 체중 차이에 기인한 오차를 줄이기 위하여 아래의 공식으로 상대 중량을 측정하였다.

Relative weight (%) = [(Absolute spleen weight / Body weight at sacrifice) × 100]

7) 채혈

MTX 투여 5일 후에는 모든 실험동물을 ethyl ether로 마취한 다음 안와 정맥총에서 약 1ml의 혈액을 채취하여 EDTA (ethylene diamine tetraacetic acid dipotassium salt) 처리하여 혈액응고를 방지한 뒤 사용하였으며, 최종 부검시에는 일반적인 방법으로 개복하여 5ml의 혈액을 채취하여 1ml를 EDTA 처리하여 혈액응고를 방지한 뒤 사용하였다. 또한 혈중 IL-2 함량을 위하여 채혈한 혈액 중 4ml를 혈청 분리관에 넣은 다음 1시간 이내에 3,000rpm으로 10분간 원심 분리하여 혈청을 분리하여 사용하였다.

8) 말초혈액 중 총 백혈구수의 계산

안와정맥총 및 복대정맥에서 채혈한 혈액을 이용하여 각각 MTX 투여 5일 후 및 최종 희생일의 혈중 총 백혈구수를 측정하였다. 혈중 총 백혈구수는 백혈구용 혈구계산판과 희석 pipet을 이용하여  $1 \times 10^5 / \text{mm}^3$  단위로 계산하였다. 이때 희석액은 Türk solution을 이용하였다. 또한 약물 투여에 의해 변화된 혈중 총 백혈구수를 관찰하기 위하여 아래의 공식을 이용하여 약물투여 기간 동안의 혈중 총 백혈구수의 변화를 산출하였다.

Difference of total WBC numbers during dosing periods = Numbers at 2 days after last MTX-dosing - Numbers at sacrifice

9) 비장 부유액의 준비

채혈 후 복부를 70% alcohol로 완전히 도포한 후 무균적으로 비장을 적출한 다음 중량을 측정하고, 비장 실질조직만을 4°C RPMI-1640(Gibco BRL, NY, USA) 배지로 2회 세척한 뒤, RPMI-1640이 들어있는 Petri dish에서 비장 소편을 준비한 다음 homogenize하여 비장세포를 부유시켰다. 준비된 부유액을 스테인레스 철판(mesh No. 100; Sigma, USA)에 여과하여 조직편 및 유리되지 않은 세포덩어리를 제거하고 RPMI-1640으로 다시 1회, HBSS(Hanks Balanced Salt Solution, Gibco BRL, USA)로 2회 세척하였다. 이 후 멸균된 증류수로 hypotonic shock을 일으켜 적혈구를 완전히 용해시킨 뒤, 10배 희석한 HBSS로 2회 세척하고

RPMI-1640배지로 한 번 더 세척한 다음 10% FBS(fetal bovine serum; Gibco BRL, USA)가 첨가된 혼합배지에 비장세포를 재부유하여 사용하였다.

10) 말초혈액 및 비장내의 림프구수 측정

EDTA를 사용하여 응고 방지한 혈액에 동량의 PBS를 섞은 것과 비장세포 부유액에 Lymphoprep( $1.077 \pm 0.0001 \text{g/ml}$ , Nycomed Pharma As, Oslo, Norway)를 첨가한 것을 30분 동안 3,000rpm에서 원심분리하여 상층을 버리고, 중간에 하얗게 부유해 있는 림프구를 분리하였다. 분리된 림프구를 PBS에 부유시켜서 3,000rpm에서 10분간 2회 원심세척한 후 RPMI-1640 배지에 부유시키고, 광학현미경과 혈구계산판을 이용하여, Trypan blue exclusion으로 세포 수를 관찰하였다.

11) 말초혈액 및 비장내의 B 세포율, T 세포율, CD3+CD4+ T 세포율 및 CD3+CD8+ T 세포율 측정

EDTA tube에 담긴 혈액과 비장세포 부유액을 12 x 75 시험관 2개에  $100 \mu\text{l}$ 씩 넣었다. 각각의 시험관에 FITC Anti-Rat CD3 Monoclonal Antibody(DiaSorin, MN, USA)를  $0.1 \mu\text{l}$  추가하고 다시 PE Anti-Rat CD45R/B220 Monoclonal Antibody(Sigma, USA)를  $0.5 \mu\text{l}$  추가하고 Vortex mixer로 잘 섞고 어두운 곳에 30분간 방치한 후 Lysing solution(FACS Lysing solution, Becton Dickinson, USA) 2ml를 추가하고, 잘 섞어 다시 15분간 어두운 곳에 방치하였다. Lysis를 확인하고 원심분리기에서 1000rpm, 5분간 원심분리한 뒤 상층액을 버리고 2ml의 washing solution(PBS)을 가한 후 다시 1000rpm, 5분간 원심분리 하였다. 상층액을 버리고  $500 \mu\text{l}$ 의 PBS를 가하여 Vortex mixer로 잘 섞은 후 Flow cytometer(Becton Dickinson, USA)로 분석하였다.

12) 말초혈액 및 비장내의 CD4+/CD8+ T 세포율 측정

측정된 말초혈액 및 비장내의 CD3+CD4+ T 세포율과 CD3+CD8+ T 세포율을 이용하여, CD4+/CD8+ T 세포의 비율을 아래의 공식을 이용하여 측정하였다.

CD4+/CD8+ T lymphocytes (Ratio) = (CD3+CD4+ T lymphocytes / CD3+CD8+ T lymphocytes)

13) 말초혈액 IL-2 함량 및 비장세포의 IL-2 생산량의 측정

준비된 혈청 내에서 IL-2 함량을 mouse IL-2 측정용 ELISA Kit인 Intertest-2X kit(Endogen, USA)로 450nm의 파장에서 흡광도를 측정하여 표준곡선으로부터 검체내의 IL-2량을 측정하였다. 또한 준비된 비장세포를 FBS가 10% 첨가된 RPMI-1640 혼합배지에 1106 cell/ml의 농도로 재부유하고, 여기에 concanavalin-A(Sigma, USA)를  $100 \mu\text{g/ml}$ 의 농도로 가한 후 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 동안 배양한 후 상층액을 수거하여 IL-2의 생산량을 고품상 면역효소 측정법을 이용한 mouse IL-2 측정용 ELISA Kit인 Intertest-2X kit(Endogen, USA)로 450nm의 파장에서 흡광도를 측정하여 표준곡선으로부터 검체내의 IL-2량을 측정하였다. 96 well plate의 각 well에 시료를  $10 \mu\text{l}$ 씩 분주하고 덮개로 덮은 후 36°C에서 40분간 배양하였고, 배양이 끝난 후 well의 반응용액을 제거하고 세척용 buffer로 4번 세척한 후 plate에서 paper towel로 습기를 제거하고 각 well에 biotinylated polyclonal anti-mouse IL-2(Endogen, USA)를

100 $\mu$ l씩 분주하고 덮개로 덮은 후 37 $^{\circ}$ C에서 40분간 배양하였다. 다시 well의 반응용액을 제거하고 세척용 buffer로 4번 세척 후 plate에서 paper towel로 습기를 제거하고 각 well에 streptoavidin-peroxidase(Sigma, USA)를 100 $\mu$ l씩 분주한 뒤 다시 덮개로 덮은 후 37 $^{\circ}$ C에서 25분간 배양하였다. 다시 well의 반응용액을 제거하고 세척용 buffer로 4번 세척한 후 plate towel로 습기를 제거하고 각 well에 substrate mix(Endogen, USA)를 100 $\mu$ l씩 분주하여 다시 덮개로 덮은 후 상온에서 10분간 배양하였다. 이후 각 well에 정지용액을 100 $\mu$ l씩 분주한 후 ELISA판독기로 파장450nm에서 흡광도를 측정하였다. 그리고 standard curve 상에서 측정된 흡광도에 해당하는 IL-2의 농도를 산출하였다.

14) 통계처리

모든 수치는 암수 각각의 대조군과 비교하여 Mann-Whitney Wilcoxon's Rank Sum(MW) test로 유의성을 검증하였으며, 모든 통계처리는 SPSS for Windows(Release 10.1.2, SPSS Inc., USA)를 이용하였다. 또한 모든 결과는 대조군의 경우 정상군과 비교한 % changes를 아래의 공식으로 산출하였으며, 실험군에서는 대조군과 비교한 % changes를 아래의 공식을 이용하여 산출하였다.

$$\% \text{ Changes vs Sham} = [(Data \text{ of Sham} - Data \text{ of Control}) / Data \text{ of Sham} \times 100]$$

$$\% \text{ Changes vs Control} = [(Data \text{ of Control} - Data \text{ of tested group}) / Data \text{ of Control} \times 100]$$

결 과

1. 체중 및 체중증가량의 변화

1) 체중의 변화

대조군, 1,000mg/kg · 500mg/kg · 250mg/kg 古庵心腎丸 투여군(이하 각 T1 · T2 · T3군)에서는 정상군에 비해 유의성 있는 감소가 MTX 투여 5일 후부터 실험 전 기간에 걸쳐 관찰되었다. T1군 및 T2군에서는 古庵心腎丸 투여 14일 후부터 대조군에 비해 유의성 있는 증가를 나타내었으며, T3군에서는 古庵心腎丸 투여 14일 후부터 다소 증가되었으나, 유의성은 인정되지 않았다(Table 2).

Table 2. Body Weight Changes in MTX-induced Immunosuppressed Female SD Rats after "Goamshimshinwan" Extracts-dosing.

Group ID <sup>1)</sup>	Sham	Control	T1	T2	T3
Day-1	185.67±6.98	186.00±10.81	186.83±11.82	185.83±9.75	185.83±12.84
MTX 0 <sup>b)</sup>	188.83±5.95	189.17±12.11	187.67±12.40	186.83±9.30	187.33±12.82
MTX 5	241.17±34.10	167.50±13.02**	165.50±12.21**	164.33±10.41**	165.33±14.01**
Day 0 <sup>2)</sup>	219.97±34.14	147.67±11.43**	147.17±7.25**	148.50±9.27**	148.00±9.96**
Day 1	241.83±38.51	147.00±13.83**	148.50±7.66**	148.33±7.84**	150.17±10.28**
Day 7	271.67±33.22	144.00±12.33*	158.17±6.94**	154.33±6.77**	145.67±10.31**
Day 13	284.83±29.65	145.33±7.89**	163.50±6.63**#	158.00±4.90**#	149.00±5.59**
Day 14 <sup>2)</sup>	258.17±28.37	131.67±8.50**	151.17±6.55**#	147.83±4.90**#	136.67±5.28**

Mean ± S.D., g: 1) Group ID was listed in Table 1; 2) Overnight fasted: a) At initial MTX dosing; b) At initial Goamshimshinwan extract dosing; c) At sacrifice; \* p<0.05 compared to that of Sham (MW test); \*\* p<0.01 compared to that of Sham (MW test); # p<0.05 compared to that of Control (MW test); ## p<0.01 compared to that of Control (MW test). (T1: 古庵心腎丸 抽出物 1,000mg/kg 投與群, T2: 古庵心腎丸 抽出物 500mg/kg 投與群, T3: 古庵心腎丸 抽出物 250mg/kg 投與群)

2) 체중증가량의 변화

MTX 투여기간 동안의 체중증가량은 모든 MTX 면역억제군

에서 정상군에 비해 유의성 있는 감소가 인정되었다. 약물 투여 기간 동안의 체중증가량은 T1군에서 대조군에 비해 유의성 있는 증가를 나타내었다(Table 3).

Table 3. Body Weight Gains in MTX-induced Immunosuppressed Female SD Rats after "Goamshimshinwan" Extracts-dosing.

Group ID <sup>1)</sup>	Periods of body weight gains			
	MTX 0 - 5	Changes <sup>2)</sup>	Day 0 - 14	Changes
Sham	52.33 ± 30.67		38.50 ± 13.98	
Control	-21.67 ± 2.88**	-141.40%	-16.00 ± 13.94**	-141.56%
T1	-22.17 ± 2.14**	-1.31%	4.00 ± 9.10**#	126.00%
T2	-22.50 ± 4.14**	-2.85%	-0.67 ± 8.36**	96.83%
T3	-22.00 ± 2.53**	-0.54%	-11.33 ± 11.69	30.17%

Mean ± S.D., g: 1) Group ID was listed in Table 1; 2) Changes vs Sham or Control: \* p<0.05 compared to that of Sham (MW test); \*\* p<0.01 compared to that of Sham (MW test); # p<0.05 compared to that of Control (MW test); ## p<0.01 compared to that of Control (MW test). (T1: 古庵心腎丸 抽出物 1,000mg/kg 投與群, T2: 古庵心腎丸 抽出物 500mg/kg 投與群, T3: 古庵心腎丸 抽出物 250mg/kg 投與群)

2. 비장 중량의 변화

절대 비장 중량은 모든 MTX 면역억제군에서는 정상군에 비해 유의성 있는 감소가 인정되었으며, 모든 古庵心腎丸 투여군에서는 대조군에 비해 유의성 있는 증가를 나타내었다. 상대 비장 중량은 대조군 및 T3군에서는 정상군에 비해 유의성 있는 감소가 인정되었으며, T1 · T2군에서는 대조군에 비해 유의성 있는 증가를 나타내었다(Table 4).

Table 4. Changes on the Spleen Weight in MTX-induced Immuno-suppressed Female SD Rats after "Goamshimshinwan" Extracts-dosing.

Group ID <sup>1)</sup>	Absolute weight (g)	Changes <sup>3)</sup>	Relative weight (%) <sup>2)</sup>	Changes
Sham	0.721±0.087		0.283±0.052	
Control	0.210±0.069**	-70.84%	0.159±0.049*	-43.88%
T1	0.418±0.047**##	98.89%	0.278±0.042**	74.76%
T2	0.343±0.038**##	63.36%	0.233±0.030#	46.48%
T3	0.281±0.024**##	33.62%	0.206±0.020*	29.41%

Mean ± S.D. (n=6): 1) Group ID was listed in Table 1; 2) Relative weight (%) = [(Absolute spleen weight / Body weight at sacrifice) × 100]; 3) Changes vs Sham or Control: \* p<0.05 compared to that of Sham (MW test); \*\* p<0.01 compared to that of Sham (MW test); # p<0.05 compared to that of Control (MW test); ## p<0.01 compared to that of Control (MW test). (T1: 古庵心腎丸 抽出物 1,000mg/kg 投與群, T2: 古庵心腎丸 抽出物 500mg/kg 投與群, T3: 古庵心腎丸 抽出物 250mg/kg 投與群)

3. 말초혈액 중 총 백혈구수의 변화

약물 투여 후 말초혈액 중 총 백혈구수의 변화량은 T1 · T2 군에서 대조군에 비해 유의성 있는 증가를 나타내었다(Table 5).

Table 5. Changes on the Total WBC Numbers in the Peripheral Blood in MTX-induced Immunosuppressed Female SD Rats after "Goamshimshinwan" Extracts-dosing II: Changes after "Goamshimshinwan" Extracts-dosing<sup>1)</sup>.

Group ID <sup>2)</sup>	At MTX 5 (× 10 <sup>3</sup> cells/mm <sup>3</sup> )	Changes <sup>3)</sup>
Sham	0.11 ± 0.72	
Control	-0.85 ± 1.01	-850.00%
T1	1.30 ± 0.75**	253.55%
T2	0.56 ± 0.64*	167.08%
T3	-0.47 ± 0.98	45.90%

Mean ± S.D. (n=6): 1) Difference of total WBC numbers during dosing periods = Numbers at 2 days after last MTX-dosing - Numbers at sacrifice; 2) Group ID was listed in Table 1; 3) Changes vs Sham or Control: \* p<0.05 compared to that of Sham (MW test); \*\* p<0.01 compared to that of Sham (MW test); # p<0.05 compared to that of Control (MW test); ## p<0.01 compared to that of Control (MW test). (T1: 古庵心腎丸 抽出物 1,000mg/kg 投與群, T2: 古庵心腎丸 抽出物 500mg/kg 投與群, T3: 古庵心腎丸 抽出物 250mg/kg 投與群)

4. 말초혈액 및 비장내의 림프구수의 변화

최종 부검 시 말초혈액내 림프구의 수는 모든 古庵心腎丸 투여군에서 대조군에 비해 유의성 있는 증가를 나타내었으며, 비장내 림프구의 수는 T1·T2군에서 대조군에 비해 유의성 있는 증가를 나타내었다(Table 6).

Table 6. Changes on the Lymphocyte Numbers in the Peripheral Blood and Spleen in MTX-induced Immunosuppressed Female SD Rats after "Goamshimshinwan" Extracts-dosing.

Group ID <sup>1)</sup>	Blood (×10 <sup>6</sup> cells/ml)	Changes <sup>2)</sup>	Spleen (×10 <sup>6</sup> cells/ml)	Changes
Sham	75.75±4.12		64.87±9.74	
Control	43.88±4.19**	-42.07%	30.92±4.72**	-52.33%
T1	57.08±4.31**.#	30.07%	47.21±7.20**.#	52.68%
T2	50.95±2.53**.#	16.12%	38.23±5.58**.#	23.64%
T3	49.69±5.67**.#	13.24%	35.78±5.19**	15.71%

Mean ± S.D. (n=6); 1) Group ID was listed in Table 1; 2) Changes vs Sham or Control: \* p<0.05 compared to that of Sham (MW test); \*\* p<0.01 compared to that of Sham (MW test); # p<0.05 compared to that of Control (MW test); ## p<0.01 compared to that of Control (MW test). (T1: 古庵心腎丸 抽出物 1,000mg/kg 投與群, T2: 古庵心腎丸 抽出物 500mg/kg 投與群, T3: 古庵心腎丸 抽出物 250mg/kg 投與群)

5. 말초혈액 및 비장내의 B 세포들의 변화

최종 부검 시 말초혈액내 B 세포들은 T1군에서 대조군에 비해 유의성 있는 증가를 나타내었으며, 비장내 B 세포들은 T1·T2 군에서 대조군에 비해 유의성 있는 증가를 나타내었다(Table 7).

Table 7. Changes on the Ratio of B Lymphocytes in the Peripheral Blood and Spleen in MTX-induced Immunosuppressed Female SD Rats after "Goamshimshinwan" Extracts-dosing.

Group ID <sup>1)</sup>	Blood (%)	Changes <sup>2)</sup>	Spleen (%)	Changes
Sham	46.91±3.15		41.99±2.43	
Control	39.63±2.86**	-15.53%	35.71±1.74**	-14.95%
T1	43.26±1.40#	9.16%	40.57±2.70#	13.62%
T2	42.57±2.39*	7.41%	39.67±1.55#	11.10%
T3	41.26±2.69*	4.11%	37.12±3.08*	3.95%

Mean ± S.D. (n=6); 1) Group ID was listed in Table 1; 2) Changes vs Sham or Control: \* p<0.05 compared to that of Sham (MW test); \*\* p<0.01 compared to that of Sham (MW test); # p<0.05 compared to that of Control (MW test); ## p<0.01 compared to that of Control (MW test). (T1: 古庵心腎丸 抽出物 1,000mg/kg 投與群, T2: 古庵心腎丸 抽出物 500mg/kg 投與群, T3: 古庵心腎丸 抽出物 250mg/kg 投與群)

6. 말초혈액 및 비장내의 T 세포들의 변화

최종 부검 시 말초혈액내 T 세포들은 T1군에서 대조군에 비해 유의성 있는 증가를 나타내었으며, 비장내 T 세포들은 T1·T2 군에서 대조군에 비해 유의성 있는 증가를 나타내었다(Table 8).

Table 8. Changes on the Ratio of T lymphocytes in the Peripheral Blood and Spleen in MTX-induced Immunosuppressed Female SD Rats after "Goamshimshinwan" Extracts-dosing.

Group ID <sup>1)</sup>	Blood (%)	Changes <sup>2)</sup>	Spleen (%)	Changes
Sham	51.63±5.04		50.65±4.56	
Control	43.19±3.83*	-16.34%	39.13±4.11**	-22.74%
T1	50.97±2.06#	18.02%	48.23±6.56#	23.26%
T2	49.95±5.75	15.65%	43.92±2.67**.#	12.24%
T3	46.43±2.19*	7.51%	41.14±1.84**	5.14%

Mean ± S.D. (n=6); 1) Group ID was listed in Table 1; 2) Changes vs Sham or Control: \* p<0.05 compared to that of Sham (MW test); \*\* p<0.01 compared to that of Sham (MW test); # p<0.05 compared to that of Control (MW test); ## p<0.01 compared to that of Control (MW test). (T1: 古庵心腎丸 抽出物 1,000mg/kg 投與群, T2: 古庵心腎丸 抽出物 500mg/kg 投與群, T3: 古庵心腎丸 抽出物 250mg/kg 投與群)

7. 말초혈액 및 비장내의 CD3+CD4+ T 세포들의 변화

최종 부검 시 말초혈액내 및 비장내 CD3+CD4+ T 세포들은

T1·T2군에서 대조군에 비해 유의성 있는 증가를 나타내었다 (Table 9).

Table 9. Changes on the Ratio of CD3+CD4+ T Lymphocytes in the Peripheral Blood and Spleen in MTX-induced Immunosuppressed Female SD Rats after "Goamshimshinwan" Extracts-dosing.

Group ID <sup>1)</sup>	Blood (%)	Changes <sup>2)</sup>	Spleen (%)	Changes
Sham	42.65±3.99		40.34±6.41	
Control	31.41±4.24**	-26.36%	27.51±3.13**	-31.81%
T1	42.13±4.05**	34.16%	38.52±4.17**	40.04%
T2	40.51±3.35**	28.98%	32.64±3.05**	18.67%
T3	36.00±5.16	14.64%	32.55±2.69*	18.32%

Mean ± S.D. (n=6); 1) Group ID was listed in Table 1; 2) Changes vs Sham or Control: \* p<0.05 compared to that of Sham (MW test); \*\* p<0.01 compared to that of Sham (MW test); # p<0.05 compared to that of Control (MW test); ## p<0.01 compared to that of Control (MW test). (T1: 古庵心腎丸 抽出物 1,000mg/kg 投與群, T2: 古庵心腎丸 抽出物 500mg/kg 投與群, T3: 古庵心腎丸 抽出物 250mg/kg 投與群)

8. 말초혈액 및 비장내의 CD3+CD8+ T 세포들의 변화

최종 부검 시 말초혈액내 CD3+CD8+ T 세포들은 모든 古庵心腎丸 투여군에서 대조군에 비해 다소 증가되었으나, 유의성은 인정되지 않았으며, 비장내 CD3+CD8+ T 세포들은 T1군에서 대조군에 비해 유의성 있는 증가를 나타내었다(Table 10).

Table 10. Changes on the Ratio of CD3+CD8+ T Lymphocytes in the Peripheral Blood and Spleen in MTX-induced Immunosuppressed Female SD Rats after "Goamshimshinwan" Extracts-dosing.

Group ID <sup>1)</sup>	Blood (%)	Changes <sup>2)</sup>	Spleen (%)	Changes
Sham	16.52±0.73		20.32±1.41	
Control	17.33±1.42	4.92%	19.67±2.41	-3.20%
T1	18.88±1.37*	8.93%	22.12±0.77**	12.46%
T2	18.42±1.26*	6.26%	20.75±1.48	5.48%
T3	18.56±2.36	7.09%	20.56±1.20	4.52%

Mean ± S.D. (n=6); 1) Group ID was listed in Table 1; 2) Changes vs Sham or Control: \* p<0.05 compared to that of Sham (MW test); \*\* p<0.01 compared to that of Sham (MW test); # p<0.05 compared to that of Control (MW test); ## p<0.01 compared to that of Control (MW test). (T1: 古庵心腎丸 抽出物 1,000mg/kg 投與群, T2: 古庵心腎丸 抽出物 500mg/kg 投與群, T3: 古庵心腎丸 抽出物 250mg/kg 投與群)

9. 말초혈액 및 비장내의 CD4+/CD8+ T 세포들의 변화

최종 부검 시 말초혈액내 CD4+/CD8+ T 세포들은 T1·T2 군에서 대조군에 비해 유의성 있는 증가를 나타내었으며, 비장내 CD4+/CD8+ T 세포들은 모든 古庵心腎丸 투여군에서 대조군에 비해 현저히 증가되었으나, 유의성은 인정되지 않았다(Table 11).

Table 11. Changes on the Ratio of CD4+/CD8+ T Lymphocytes in the Peripheral Blood and Spleen in MTX-induced Immunosuppressed Female SD Rats after "Goamshimshinwan" Extracts-dosing.

Group ID <sup>2)</sup>	Blood (Ratio)	Changes <sup>3)</sup>	Spleen (Ratio)	Changes
Sham	2.59±0.34		1.98±0.25	
Control	1.82±0.23**	-29.98%	1.43±0.32*	-27.99%
T1	2.24±0.30#	23.67%	1.74±0.20	22.15%
T2	2.21±0.23**	21.64%	1.58±0.22*	10.98%
T3	1.99±0.52	9.68%	1.58±0.12**	10.77%

Mean ± S.D. (n=6); 1) CD4+/CD8+ T lymphocytes (Ratio) = (CD3+CD4+ T lymphocytes / CD3+CD8+ T lymphocytes); 2) Group ID was listed in Table 1; 3) Changes vs Sham or Control: \* p<0.05 compared to that of Sham (MW test); \*\* p<0.01 compared to that of Sham (MW test); # p<0.05 compared to that of Control (MW test); ## p<0.01 compared to that of Control (MW test). (T1: 古庵心腎丸 抽出物 1,000mg/kg 投與群, T2: 古庵心腎丸 抽出物 500mg/kg 投與群, T3: 古庵心腎丸 抽出物 250mg/kg 投與群)

10. 말초혈액 IL-2 함량 및 비장세포의 IL-2 생산량의 변화

최종 부검 시 말초혈액내 IL-2 함량 및 비장세포 IL-2 생산량

은 T1·T2군에서 대조군에 비해 유의성 있는 증가를 나타내었다 (Table 12).

Table 12. Changes on the IL-2 Levels in the Peripheral Blood and IL-2 Productivity of Spleen Cells in MTX-induced Immunosuppressed Female SD Rats after "Goamshimshinwan" Extracts-dosing.

Group ID <sup>1)</sup>	Blood levels (pg/ml)	Changes <sup>2)</sup>	Spleen cell productivity(pg/ml)	Changes
Sham	5.09±1.08		33.95±4.02	
Control	2.16±0.76**	-57.51%	19.18±2.34**	-43.50%
T1	3.89±0.49*.*#	79.82%	26.88±4.78*.*#	40.15%
T2	3.09±0.15*.*#	42.84%	23.55±2.57*.*#	22.80%
T3	2.47±0.92**	14.02%	21.22±3.26**	10.65%

Mean ± S.D. (n=6); 1) Group ID was listed in Table 1; 2) Changes vs Sham or Control; \* p<0.05 compared to that of Sham (MW test); \*\* p<0.01 compared to that of Sham (MW test); # p<0.05 compared to that of Control (MW test); ## p<0.01 compared to that of Control (MW test). (T1: 古庵心腎丸 抽出物 1,000mg/kg 投與群, T2: 古庵心腎丸 抽出物 500mg/kg 投與群, T3: 古庵心腎丸 抽出物 250mg/kg 投與群)

## 고찰

인체의 면역반응은 선천면역과 적응면역으로 구분되며, 선천면역은 상피와 상피표면에서 분비되는 항 미생물질과 같은 물리·화학적 장벽, 포식세포와 자연 살해세포, 보체계의 구성 성분, 염증반응의 기타 매개자들을 포함하는 혈액 단백질과 세포들의 활성을 조절하는 사이토카인이라 불리는 단백질 등으로 구성되어져 미생물에 대한 빠르고 일차적인 방어를 담당한다. 적응면역은 특이성과 기억성을 특징으로 하는데, 체액성 면역와 세포성 면역으로 나누어진다. 체액성 면역는 B 림프구 및 이들의 분비형 산물인 항체에 의해 매개되며 세포 외 미생물에 대한 방어기능을 하며, 세포성 면역는 기능적으로 더욱 분화된 T 림프구들의 표면 수용체 및 사이토카인과 같은 산물에 의해 매개되어 체액성 면역반응의 항체가 미치지 못하는 바이러스나 일부 박테리아와 같은 세포내 미생물에 대한 방어를 담당한다.<sup>1,19,20</sup>

한편, T 림프구의 아집단은 다시 기능적으로 보조 T 림프구, 세포독성 T 림프구, 억제 T 림프구로 세분되는데, 세포성 면역반응에서 중추적 역할을 하는 것으로 알려진 대부분의 보조 T 림프구는 CD4라는 표면단백질을, 또 대부분의 세포독성 T 림프구는 다른 표지인 CD8이라는 표면단백질을 발현하며 아직 논란의 여지가 많으나, 많은 실험적 방법들에 의하면 면역반응을 억제하는 세포는 CD8+이며, CD8+세포의 감소가 말초혈액에서 항원에 대한 T 림프구의 반응성을 증가시킨다는 보고가 있다.<sup>1,19</sup>

보조 T 림프구가 항원의 자극에 대한 반응으로 분비하는 사이토카인 중 IL-2는 T 림프구에 대한 주된 자가 분비적 성장인자로, 활성화된 CD4+ T 세포에 의해 합성되는 IL-2의 양은 T 림프구 의존적 면역반응의 크기를 결정하며, 자연 살해세포의 성장을 자극하여 세포 용해성 기능을 증진시키기도 하고, B 림프구의 성장인자, 항체 생산을 위한 자극인자 및 활성화된 T 림프구에 대한 자살인자로 작용하기도 한다.<sup>21,22</sup>

이러한 역할을 하는 림프구 표면의 표지 단백질에 대한 항체를 사용하여 면역력을 정량화할 수 있으며 체내의 B 세포들과 T 세포들 및 T 세포 아집단들의 세포를 측정 등이 이러한 면역기능 검사들 중의 하나이고 말초혈액내의 CD4+ T 세포들과

CD4+/CD8+ T 세포들은 면역결핍성 질환이나 자가면역질환 등을 평가하는데 응용되는 면역 기능 검사방법이다<sup>23,24</sup>.

MTX는 항암제이자 면역억제제로 주로 여성의 옴모막암 치료에 사용되는데, MTX를 동물에 최소 치사량을 투여한 경우 대부분 48시간 이상 생존하나 3~5일 이내에 사망하며, 주로 위장관과 골수 손상이 심하며, 골수에서는 퇴행성 변성이 빠르게 일어나 투여 후 24시간 이내에 적혈구 성숙장애, 백혈구 생성저하, 골수장애, 림프조직내의 림프세포 감소를 나타낸다<sup>25</sup>.

한의학에서는 인체의 각종 생리활동, 예컨대 陰陽消長, 氣血生化, 營衛運行 등은 모두 病邪를 抗御하는 능력을 가지고 있다고 인식하며, 이를 正(正氣)이라고 한다. 邪(病邪)는 正氣에 상대해서 한 말이며, 주로 外感六淫 및 痰飲, 食積, 瘀血 등을 말한다. 그리고 正, 邪間의 鬪爭으로부터 발병기전을 논술하면 邪氣가 병을 일으키는 것은 인체 正氣의 변화를 통해서만이 가능하다. 만약 인체의 正氣가 강성하거나 邪의 致病力이 비교적 약하면 '正能御邪'하여 발병하지 않는다<sup>8</sup>. 「黃帝內經」의 「靈樞·百病始生篇」<sup>9</sup>에서 「風雨寒熱 不得虛 邪不能獨傷人. 猝然逢疾風暴雨而不病者 蓋無虛 故邪不能獨傷人」이라고 한 것과 같다. 이는 결국 「黃帝內經」의 「素問·刺法論」<sup>9</sup>에서 「正氣存內 邪不可干」이라고 한 말을 의미한다. 반대로 인체의 正氣가 비교적 약하거나 邪의 致病力이 비교적 강하면 '正不敵邪'하여 발병하게 된다. 즉, 「黃帝內經」의 「素問·評熱病論」<sup>9</sup>에서 「邪之所湊 其氣必虛」라고 말한 것과 같다. 이와 같이 한의학 이론 중의 邪正鬪爭의 관점은 질병 발생의 근본 원인이 결코 外因에 있는 것이 아니라 인체 내부의 상대적인 활동, 즉 正氣가 虛할 때 邪氣가 인체에 작용된 후 인체 내부의 陰陽, 氣血, 經絡, 臟腑 등의 활동에서 드러나는 陰陽의 세력 균형의 변화에 있다고 설명되며, 이러한 正氣의 질병에 대한 저항능력은 현대의 면역기능과 유사하게 인식할 수 있을 것으로 생각된다. 또한, 이러한 질병에 대한 治法 역시 「黃帝內經」의 「素問·四氣調神大論」<sup>9</sup>에서 「不治己病而治未病」이라고 한 바와 같이 예방 위주의 治法을 행하였다<sup>6-8</sup>.

한편, 최근 면역기능의 증가에 미치는 영향에 관한 한의학적 연구 중에서 MTX와 관련된 연구로는 金<sup>9</sup>, 김<sup>11</sup>, 강<sup>14</sup>, 具<sup>15</sup> 등이 人蔘, 黃芪, 何首烏, 固真飲子, 黃芪建中湯이 MTX로 유발된 흰쥐의 면역기능저하에 일정한 효과가 있음을 보고하였으나 古庵心腎丸이 면역기능에 미치는 영향에 대한 연구는 아직 이루어지지 않았다.

古庵心腎丸은 「東醫寶鑑」의 「虛勞門」<sup>17</sup>에 따르면 '治勞損心腎 虛而有熱 驚悸怔忡 遺精盜汗 目暗耳鳴 腰痛脚痠 久服黑鬚髮 令人有子'의 효능을 가지고, 「雜病源流犀燭」의 「臟腑門」<sup>18</sup>에 따르면 '治胸中痞塞 不能飲食 如痴如醉 心中常有所歎 爰居暗室 或倚門後 見人則驚避無地'의 효능을 가진다고 하였으며, 대부분이 補肝心腎, 補陰, 補血, 清熱安神 등의 효능을 지닌 약물들로 구성되어져 인체의 면역기능의 증강에 어느 정도 효과가 있을 것으로 생각되며, 면역억제제인 MTX 투여로 유발된 면역억제 SD Rat에 古庵心腎丸 抽出物 1,000, 500 및 250mg/kg을 2주간 투여한 후 체중 및 비장 중량의 변화, 말초혈액 중 총 백혈구수의 변화, 비장 및 말초혈액에서의 총 림프구수, B 세포들, T 세포

을, CD3+CD4+ T 세포율, CD3+CD8+ T 세포율, CD4+/CD8+ T 세포율 및 T 림프구 생산 사이토카인인 IL-2 함량 등을 평가하여 다음과 같은 결과를 얻을 수 있었다.

체중의 변화에서는 모든 MTX 투여군에서 MTX 투여 5일 후부터 정상군에 비해 현저한 체중 감소가 초래되었다. 그러나 1,000 및 500mg/kg의 古庵心腎丸 투여군의 경우 대조군에 비해 유의성 있는 체중의 증가가 투여 14일 후부터 인정되었으며, 250mg/kg 투여군에서도 유의성은 인정되지 않았으나 대조군에 비해 현저한 체중 증가가 투여 이후 관찰되었으며, 체중증가량의 변화에서는 대조군에 비해 유의성은 1000mg/kg 古庵心腎丸 투여군에 국한되었으나, 모든 古庵心腎丸 투여군에서 현저히 증가 되었으므로, 고용량의 古庵心腎丸 투여에 의해 MTX 등의 독성 물질에 의해 초래되는 체중 감소가 억제되는 것으로 생각된다. 이러한 체중 증가는 古庵心腎丸의 구성 약재 대부분이 保養 효과를 가지고 있으므로 나타난 것으로 생각된다.

비장 중량의 변화에서는 MTX 투여 시 현저한 비장 절대 및 상대 중량치의 감소가 초래되었으나, 이러한 비장 중량의 감소가 古庵心腎丸 투여에 의해 억제 되었으므로, 고용량의 古庵心腎丸이 비장 중량 감소를 억제하는 효과를 가지고 있을 것으로 생각된다.

백혈구의 수적 변화에서는 모든 MTX 투여군에서 MTX 투여 5일 후 현저한 말초혈액 중 총 백혈구수의 감소가 인정되었으며, 말초혈액 및 비장내 총 림프구수 역시 현저한 감소를 나타내었다. 그러나 이러한 총 백혈구수 및 말초혈액과 비장내 총 림프구수의 감소가 古庵心腎丸 투여에 의해 현저히 억제되는 것으로 관찰되어, 古庵心腎丸이 어느 정도의 면역활성 효과를 가지고 있는 것으로 생각된다. 그러나 모든 古庵心腎丸 투여군에서 백혈구 및 림프구의 수적 증가가 인정되었지만 대조군과 비교하여 유의성 있는 변화가 1,000 및 500mg/kg 투여군에 국한되어, 古庵心腎丸의 효과는 500mg/kg 전후의 비교적 고용량 투여에 의해 일어날 것으로 생각된다.

말초혈액 및 비장내 B 림프구의 수적 변화에서는 古庵心腎丸 투여에 의해 말초혈액 및 비장내 B 림프구의 수적 감소가 현저히 억제되는 것으로 관찰되어, 古庵心腎丸이 어느 정도의 면역활성 효과를 가지고 있는 것으로 생각된다. 그러나 말초혈액 B 림프구에 대한 수적 증가가 비장내 B 림프구에 비해 현저히 낮은 것은 비장이 MTX에 더 민감한 점 때문으로 생각되며, 시간적인 문제 역시 배제 할 수 없다. 따라서 古庵心腎丸의 투여기간 또는 관찰기간이 연장될 경우 비장내 증식된 B 림프구가 말초혈액 중으로 유리되어 현저한 말초혈액내 B 림프구의 수적 증가가 일어날 것으로 생각된다.

말초혈액 및 비장내 T 림프구의 수적 변화에서는 古庵心腎丸 투여에 의해 말초혈액 및 비장내 T 림프구의 수적 감소가 현저히 억제되는 것으로 관찰되어, 古庵心腎丸이 어느 정도의 면역활성 효과를 가지고 있는 것으로 판단된다.

말초혈액 및 비장내 CD3+CD4+ T 세포율의 변화에서는 MTX 투여 시 현저한 CD4+ 림프구 비율의 감소가 말초혈액 및 비장내에서 관찰되었다. 그러나 이러한 말초혈액 및 비장내 CD4+ T 림프구의 수적 감소가 古庵心腎丸 투여에 의해 현저히

억제되는 것으로 관찰되어, 古庵心腎丸이 어느 정도의 면역활성 효과를 가지고 있는 것으로 생각된다.

말초혈액 및 비장내 CD3+CD8+ T 세포율의 변화에서는 MTX 투여 시 정상군과 유사한 CD8+ 림프구 비율이 말초혈액 및 비장내에서 관찰되었다. 한편 古庵心腎丸 투여군에서는 정상군 및 대조군에 비해 유의성 있는 변화는 1,000mg/kg 투여군에 국한되었지만 투여 용량 의존적으로 정상군 및 대조군에 비해 현저한 CD8+ 림프구 비율의 증가를 나타내어 古庵心腎丸이 CD8+ 림프구의 증식을 유발하는 미약한 효과가 있는 것으로 생각되나, 급작스런 CD4+ 림프구의 수적 증가에 대한 대상반응으로 면역기능을 어느 정도 억제하는 것으로 알려진<sup>1,19)</sup> CD8+ 림프구율의 증가가 초래될 수 있는 가능성 역시 배제할 수 없다.

말초혈액 및 비장내 CD4+/CD8+ T 세포율의 변화에서는 MTX 투여 시 현저한 CD4+/CD8+ T 세포율의 감소가 말초혈액 및 비장내에서 관찰되었다. 한편 古庵心腎丸 투여군에서는 1,000 및 500mg/kg 투여군에 국한되어 유의성이 인정되었으나, 모든 투여군에서 대조군에 비해 현저한 CD4+/CD8+ T 세포율의 증가를 나타내어 古庵心腎丸이 어느 정도의 면역활성이 있는 것으로 판단되었으며, 이러한 비율의 증가는 CD8+ 림프구의 감소보다는 CD4+ 림프구의 증가에 의한 것으로 생각된다.

말초혈액 중 IL-2 함량 및 비장세포의 IL-2 생산량의 변화에서는 MTX 투여에 의해 현저한 말초혈액 중 IL-2 함량의 감소와 비장세포의 IL-2 생산량의 감소가 초래되었으나, 이러한 변화가 고암심신환 투여에 의해 현저히 억제되는 것으로 관찰되어, 고암심신환이 어느 정도의 면역활성 효과를 가지고 있는 것으로 생각된다.

이상에서 살펴보면 고암심신환은 MTX 투여에 의해 초래되는 면역억제에 매우 유효한 효과를 나타내는 것으로 관찰되었으며, 임상에서 면역기능 저하중에 응용할 수 있을 것으로 생각된다.

## 결 론

古庵心腎丸이 MTX 투여로 유발된 SD Rat의 면역기능저하에 미치는 영향을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

체중은 1,000 및 500mg/kg 투여군에서 대조군에 비해 유의한 증가를 보였고, 체중증가량은 1,000mg/kg 투여군에서 대조군에 비해 유의한 증가를 보였다. 비장 중량의 변화는 250mg/kg 투여군을 제외한 모든 투여군에서 대조군에 비해 유의한 절대 및 상대 중량의 증가를 보였다. 말초혈액내 총 백혈구의 수적 변화는 1,000 및 500mg/kg의 투여군에서 대조군에 비해 유의한 증가를 보였다. 총 림프구의 수적 변화는 말초혈액내에서 모든 투여군에서 대조군에 비해 유의한 증가를 보였고, 비장내에서 1,000 및 500mg/kg의 투여군에서 대조군에 비해 유의한 증가를 보였다. B 세포율 및 T 세포율의 변화는 말초혈액내에서 1,000mg/kg의 투여군에서 대조군에 비해 유의한 증가를 보였고, 비장내에서 1,000 및 500mg/kg의 투여군에서 대조군에 비해 유의한 증가를 보였다. CD3+CD4+ T 세포율의 변화는 말초혈액 및 비장내에서 1,000 및 500mg/kg의 투여군에서 대조군에 비해

유의한 증가를 보였다. CD3+CD8+ T 세포율의 변화는 말초혈액 내에서 모든 투여군은 대조군에 비해 유의성이 없었고, 비장내에서 1,000mg/kg의 투여군에서 대조군에 비해 유의한 증가를 보였다. CD4+/CD8+ T 세포율의 변화는 말초혈액내에서 1,000 및 500mg/kg의 투여군에서 대조군에 비해 유의한 증가를 보였고, 비장내에서 모든 투여군은 대조군에 비해 유의성이 없었다. 말초혈액 중 IL-2 함량 및 비장세포의 IL-2 생산능의 변화는 말초혈액 및 비장내에서 1,000 및 500mg/kg의 투여군에서 대조군에 비해 유의한 증가를 보였다.

이상에서 古庵心腎丸이 MTX 투여에 의해 초래되는 면역기능저하의 개선에 매우 유효한 효과를 나타내며, 이러한 효과는 주로 T 세포의 활성화에 의해 나타나는 것으로 관찰되었다.

### 참고문헌

1. Abbas, Lichtman, Pober. 세포분자면역학. 서울, 범문사. pp 3-38, 2002.
2. 新谷太. Pathophysiology로 이해하는 내과학. 서울, 정담. (1):83-96, (7):3-27, 2002.
3. 최명애, 김주현, 박미정, 최스미, 이경숙. 생리학. 서울, 현문사. pp 113-126, 1997.
4. 楊維傑. 黃帝內經靈樞. 서울, 成輔社. p 469, 1980.
5. 裴秉哲. 今釋黃帝內經素問. 서울, 成輔社. p 64, 315, 729, 1994.
6. 낙화생. 면역과 한방. 서울, 열린책들. pp 19-20, 46-47, 1998.
7. 文濬典, 安圭錫, 崔昇勳. 東醫病理學. 서울, 高文社. pp 118-121, 1993.
8. 金完熙. 한의학원론. 서울, 成輔社. p 201, 202, 1995.
9. 金正憲, 朴喜潛, 李香淑, 李惠貞. 補中益氣湯, 人蔘 및 黃芪藥鍼이 MTX로 유발된 백서의 면역기능저하에 미치는 영향. 대한약침학회지 3(2):79-97, 2000.
10. 宋峰根, 李彥政, 金炯均, 陣善斗, 金成宰, 金東赫. 黃芪가 면역세포의 기능에 미치는 영향. 大韓本草學會誌 13(2):115-128, 1998.
11. 김일영, 이상재, 김광호. 何首烏가 methotrexate로 유도된 흰쥐의 면역기능저하에 미치는 影響. 대한예방한의학회지 4(2): 152-169, 2000.
12. 吉永星, 鄭昇杞, 李珩九. 魚腥草 및 桑菊飲이 免疫機能에 미치는 影響. 大韓韓醫學會誌 16(1):295-318, 1995.
13. 黃奎東, 柳逢夏, 朴東源, 柳基遠. 十全大補湯 瓦松 및 十全大補湯 加瓦松의 抗癌效果와 免疫反應에 關한 研究. 大韓韓方腫瘍學會誌 2(1):1-23, 1996.
14. 강대원, 강석봉. 固真飲子가 methotrexate로 유발된 흰쥐의 免疫機能低下에 미치는 影響. 대한한방내과학회지 25(4):117-128, 2004.
15. 具珍淑, 白政翰. 黃芪建中湯이 methotrexate로 유도된 흰쥐의 免疫機能低下에 미치는 影響. 대한한방소아과학회지 18(1): 27-48, 2004.
16. 韓在敬, 金允姬, 柳同烈. 加味歸茸湯이 생쥐의 免疫細胞에 미치는 影響. 대한한방소아과학회지 14(2):47-60, 2000.
17. 許浚. 東醫寶鑑. 서울, 한미의학. p 711, 2001.
18. 沈金鰲. 雜病源流犀燭. 北京, 中國中醫藥出版社. p 84, 1994.
19. 전남대학교 의과대학 면역 및 알레르기학 편찬위원회. 면역 및 알레르기학. 광주, 전남대학교 출판부. pp 1-12, 58-60, 1999.
20. Mosby International Ltd. Crash Course-Immune, Blood and Lymphatic Systems. 서울, 도서출판 한우리. pp 15-41, 2000.
21. 김태규, 박수정, 서영훈, 신동건, 엄현석, 이정립 외 5인. 면역생물학(5th). 서울, 라이프사이언스. pp 3-33, 2002.
22. 김주덕, 성인화, 오양효, 김영부, 정선식, 정헌택 외 5인. 필수면역학. 서울, 고문사. pp 97-114, 1991.
23. Everaus, H. Hormones and immune responsiveness in chronic lymphocytic leukemia. Leuk Lymphoma. 8(6):483-489, 1992.
24. Stein, D.S., Korvic, J.A., Vermund, S.H. CD4+ lymphocyte cell enumeration for prediction of clinical course of human immunodeficiency virus disease: a review. J Infect Dis. 165:352-363, 1992.
25. 김경환. 이우주의 약리학강의. 서울, 의학문화사. pp 650-652, 1998.